

Instituut voor Agrotechnologisch Onderzoek

A42

**voortgangsrapportage
ATO-champignonprogramma
eerste half jaar 1992**

dr. W.M.F. Jongen,
programmaleider

ato-dlo



2251457

Voortgangsrapportage
ATO-Champignonprogramma
eerste halfjaar 1992

Wageningen, augustus 1992.
dr W.M.F. Jongen, programmaleider

INHOUD	Pag.
1. Veroudering van de champignon (A. Braaksma)	3 - 7
2. Modelleren van MA-verpakkingen van champignons (H. Peppelenbos)	8 - 12
3. Het iso-enzym met een laag iso-elektrisch punt van tyrosinase uit <i>Agaricus bisporus</i> is een glycoproteïne (H.J. Wichers)	13 - 20
4. Onderzoek naar factoren die bepalend zijn voor de verwerkingsverliezen van champignons (E. Schijvens)	21 - 26
5. De ontwikkeling van verwerkingstechnieken voor champignonprodukten (P. Bartels, G. van Laarhoven)	27 - 35
6. Een beslissingsondersteunend systeem (DSS) voor strategische planning (R. Broekmeulen)	36 - 38
7. Koel- en bewaarsystemen voor champignons (J.W. Rudolphij)	39 - 41
8. Computer Beeld Analyse (B. van Zwol)	42 - 44

VEROUDERING VAN DE CHAMPIGNON

A.Braaksma

Doelstelling

Met het voortgaan van de veroudering in de afzetketen neemt de kwaliteit van de champignon af. Het onderzoek is erop gericht de eerste aanzet, of een van de eerste stappen, van het verouderingsproces te vinden. Hiermee komt dan een belangrijke parameter in handen die het in principe mogelijk maakt de daarop volgende veroudering specifiek af te remmen. Een uitgestelde veroudering, danwel een nauwelijks afnemende kwaliteit van de champignon, zou een vergroting van het afzetgebied mogelijk maken en nieuwe markten aanboren.

Projectbeschrijving

- I. Meten en beschrijven van veranderingen in membraan-samenstelling en die met veroudering zijn geassocieerd, die als parameter voor het begin van veroudering kunnen dienen.
- II. De snelle afleving van de champignon is mogelijk door de hoge ademhalingssnelheid van het produkt. De hypothese is dat verouderingskenmerken gebonden zijn aan het niveau en werking van de respiratieprocessen.
- III. Histologische veranderingen op cellulair niveau. De centrale vraag is: Hoe wordt de bekende macroscopische groei van bepaalde weefsels van de champignon op cellulair niveau mogelijk gemaakt?
- IV. De regulerende rol van calmoduline/calcium. Het calmoduline is een eiwit, waarvan (in andere organismen) is aangetoond dat het een rol speelt bij regulatie van processen op cellulair niveau. Daar calmoduline ook in champignons voorkomt en de structuur van dit eiwit nauwelijks afwijkt van calmodulines uit andere organismen, is een regulerende functie ook in champignon hoogst waarschijnlijk. Als eerste aanzet zal de concentratie van dit eiwit in de verschillende delen van de champignon gedurende de veroudering worden bepaald.

Voortgang eerste halfjaar 1992

- I. De werkzaamheden in het kader van dit deel-project beperkt zich tot het schrijven van een publicatie en enkele aanvullende experimenten.
- II. De respiratie van de champignon U1, als geheel en van verschillende onderdelen, is gedurende de veroudering gemeten. Ook zijn andere (kastanje-)rassen gemeten en is tevens gekeken of er een langzamere veroudering plaats vindt bij een langzamere

- ademhalings-snelheid. Bepaling van ATP, een belangrijk ademhalingsprodukt m.b.v. NMR bleek nog niet betrouwbaar.
- III. Van een aantal weefsels zijn coupes gemaakt en verschillende metingen verricht. De meetresultaten worden nog doorberekend.
- IV. Uit de champignon is een eiwit gezuiverd, dat hoogst waarschijnlijk calmoduline is. Aan de identificatie wordt gewerkt. Een antilichaam is beschikbaar, maar de specificiteit moet nog worden bepaald. Zo dit antilichaam specifiek bindt, opent dit mogelijkheden middels ELISA-techniek de calmoduline concentratie in weefsels te bepalen en de wellicht het compartiment in de cel waarin het werkzaam is.

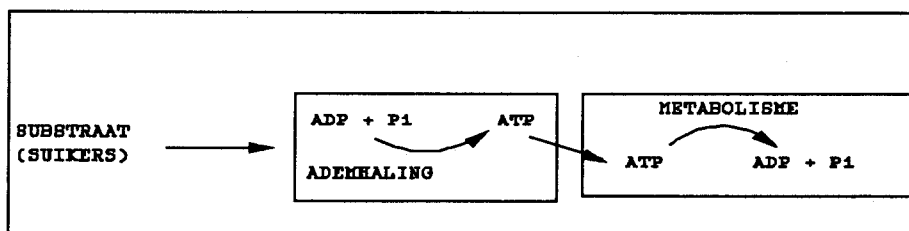
Inleiding

Een van de deelprojecten is de rol van de (zeer hoge) ademhaling in relatie tot het koolhydraatmetabolisme en energietoestand. De werkhypothese is dat de ademhalingsnelheid en de specificiteit voor een bepaald substraat gecorreleerd is met typische verouderingkenmerken als steelgroei, hoedopening en lamelgroei/sporevorming.

Voor elke synthetiserende metabolische activiteit is energie nodig. Deze energie ligt besloten in ATP moleculen. Bij splitsing van ATP in ADP (of AMP) komt behalve fosfaat ook energie vrij. Deze energie is de drijvende kracht voor alle energie-behoefte (synthetiserende) processen.

De ademhaling zorgt voor de aanmaak van ATP. Deze aanmaak is strikt gereguleerd en de concentratie ATP, en ook die van ADP en AMP, worden zo nauwkeurig op een vast niveau gehouden. Van een aantal enzymcomplexen is bekend dat de activiteit wordt gereguleerd door het beschikbaar zijn van ATP, of geremd door ADP of door een bepaalde verhouding ATP/ADP.

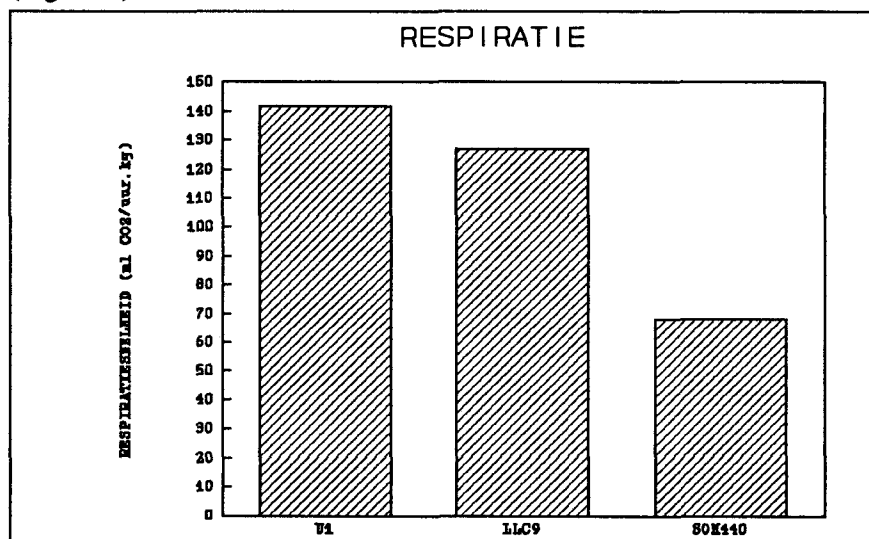
De ademhaling is normaliter strikt gekoppeld aan de vorming van ATP; dus bij de ademhaling wordt obligaat ATP gevormd. Anders gezegd, de ademhaling werkt naar behoefte. Een snel metabolisme is dus gekoppeld aan een hoge ademhalingsnelheid, dat overigens alleen kan werken indien voldoende ademhalingssubstraat (koolhydraten) voorhanden is, waarvan de verandering in samenstelling door NMR-samenwerking met LUW, nu vrijwel bekend is. Dit geheel is samengevat in het onderstaande schema



De Champignon

Uit de eerste waarnemingen komt naar voren dat, het ras U1 snel veroudert is en een zeer hoge respiratiesnelheid heeft. De kastanjechampignon rassen LLC9 (Le Lyon C9) en ES440 (Euro-Semy 440) zijn uiterlijk niet of nauwelijks van elkaar verschillend. Maar ze verschillen wel in verouderingssnelheid. LLC9 heeft een verouderingssnelheid die vrijwel gelijk is aan die van U1, en ES440 heeft een veel tragere veroudering. De respiratiesnelheden blijken navenant te verschillen.

(Figuur 1)



Figuur 1. Respiratiesnelheid van drie champignon-rassen; U1, Le Lyon C9 en Euro-Semyl 440.

Een verband tussen respiratie en veroudering lijkt aanwezig te zijn. Naast een langzamere hoedopening, is een langzamere afname in drooggewicht (suikers) tengevolge van de tragere ademhaling gevonden. In tabel 1 is de procentuele afname in drooggewicht te zien na drie dagen verouderen bij 20°C.

Tabel 1. Procentuele verandering van het drooggewicht van drie champignonrassen in hoed-, plaatjes- en steelweefsel na een veroudering van drie dagen bij 20°C en hoge luchtvochtigheid (>90%)

	U1	LLC9	ES440
HOED	-7.7%	-4.4%	-2.9%
PLAAT	+1.8%	-0.2%	-2.1%
STEEL	-16.6%	-10%	-0.7%

In de komende tijd zal dit fenomeen nader worden onderzocht en dan zal blijken of deze eerste metingen goed reproduceerbaar zijn, of dat het beeld zoals tot nu toe geschetst, aanpassing behoeft.

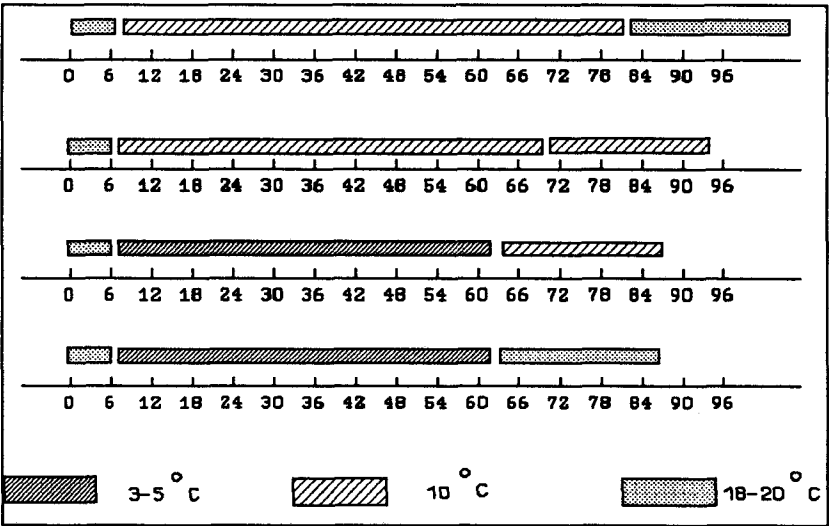
Ketensimulaties

De bestudering van de veroudering wordt modelmatig aangepakt. Eerst worden de uitersten, direct na de oogst en verouderd, met elkaar vergeleken, teneinde verschillen te vinden. Zo deze aanwezig zijn worden ze gekwantificeerd. Uiteindelijk moeten deze bevindingen worden verbonden met praktijksituaties.

Dat betekent dat de champignon op belangrijk geachte parameters moet worden onderzocht, onder die situaties die ook de afzetketen voorkomen. Daarvoor worden afzetketens gesimuleerd. Dit simulatie-onderzoek zal parallel lopen met het fundamentele, modelmatige onderzoek om de relevantie van de verschillende kenmerken te kunnen nagaan.

Uit gesprekken met de heer Rudolphy (ATO) is gekozen voor een viertal afzetketens. Dit zijn de situaties waarbij de champignon de afzetketen voor export over de grote(re) afstand (Zwitserland, Italië, Engeland) doorloopt; nabije export (Duitsland); voor het weekend geoogst, opgeslagen en in de eerste helft van de daaropvolgende week verkocht via grootwinkelbedrijf en eenzelfde afzetketen, maar dan de uiteindelijke verkoop via de kleine detailhandel. De temperatuurtrajecten staan in het onderstaande schema.

Op de horizontale balken zijn de uren aangegeven, met arcering de temperatuur waaronder de champignons zijn opgeslagen. De eerste gesimuleerde afzetketen is het meest interessant, omdat hier een grote groei in afzet mogelijk is.



MODELLEREN VAN MA-VERPAKKINGEN VAN CHAMPIGNONS

H. Peppelenbos

A. Verslag 1992-1

Probleemstelling

Bij kamertemperatuur (18°C, zoals in een supermarkt) gaat de kwaliteit van champignons snel achteruit (verkleuring van wit naar bruin en verlies van stevigheid). Bekend is dat de omgeving (temperatuur, luchtvochtigheid, zuurstof- en kooldioxideconcentraties) het kwaliteitsverloop beïnvloeden. Uit eigen onderzoek is gebleken dat zuurstof en kooldioxide een sterke invloed hebben op allerlei gevonden kwaliteitsaspecten.

De ontwikkeling, gemeten als groei en verkleuring van de lamellen, gaat trager bij 10% kooldioxide en bij 2% zuurstof. Bij 10% kooldioxide wordt zowel de groei van de steel (lengte) als de hoed (diameter) geremd.

De verkleuring van de buitenkant van de hoed wordt niet vertraagd bij 2% zuurstof (t.o.v. 21%). De binnenzijde verkleurt echter minder snel bij 2%. Mogelijk houdt dit verband met de vertraagde ontwikkeling van de lamellen.

De toename van bruine vlekken op de hoed van de champignon is veel minder bij 10% kooldioxide. Op champignons komen vooral bacteriën van verschillende soorten *Pseudomonas* voor. Deze bacteriën kunnen bruine vlekken veroorzaken. Van andere bacteriesoorten is bekend dat de groei geremd wordt door hoge (hoger dan 5%) kooldioxide-concentraties. Het is mogelijk dat ook de groei van *Pseudomonas* door hoge kooldioxide-concentraties wordt geremd.

De stevigheid (gemeten als weerstand tegen compressie) van de champignons neemt tijdens bewaring eerst iets toe. Na enkele dagen neemt de stevigheid echter af. Bij 2% zuurstof en 10% kooldioxide nam de stevigheid echter minder snel af.

Een negatief effect van kooldioxide is dat bij hoge concentraties (10%) een geelverkleuring van de champignon kan optreden. Dit is onder meer bij 10% kooldioxide duidelijk waargenomen.

Uitgaande van de huidige kennis lijken de optimale concentraties ongeveer 0.5-1.5% zuurstof en 6-8% kooldioxide te zijn. Naar de wijze waarop deze condities de verschillende kwaliteitsfactoren (en de houdbaarheid) beïnvloeden zal nog verder onderzoek worden gedaan. Dit is ook van belang voor het kunnen aangeven van de houdbaarheid bij wisselende bewaaromstandigheden en verschillende herkomsten.

Met behulp van verpakkingen is het mogelijk de omstandigheden rond het produkt te beïnvloeden, omdat een levend produkt zuurstof gebruikt en kooldioxide afgeeft (respiratie) en een verpakking in beperkte mate

doorlatend is voor zuurstof en kooldioxide (diffusie). Het is nu van belang om respiratie en diffusie zo op elkaar af te stemmen dat het bereikte evenwichtsniveau in een verpakking overeenkomt met de meest optimale luchtsamenstelling. Deze wijze van bewaren wordt MA genoemd (Modified Air). Om de optredende processen aan elkaar te kunnen koppelen, is een model onontbeerlijk. Bijkomend voordeel van de ontwikkeling van een model is dat het uiteindelijk mogelijk zal zijn om het kwaliteitsverloop van een produkt bij verschillende bewaaromstandigheden te voorspellen.

Doel

1. Het bepalen van de invloed van een aantal omgevingsfactoren, namelijk de O₂-concentratie, de CO₂-concentratie en de mate van indroging (= flow * luchtvochtigheid), op processen die de kwaliteit van verse champignons bepalen.
2. De ontwikkeling van een model dat de invloed van omstandigheden rond een produkt op het verloop van de kwaliteit van dat produkt kan berekenen en kan aangeven welke verpakking (welk materiaal) het meest geschikt is om de kwaliteit zo lang mogelijk te handhaven.

Fasering

jaar 1:

- Ontwikkeling objectieve meetmethoden kwaliteit (kleur, stevigheid, bacteriegroei, grootte)
- Het verloop van de kwaliteit bij verschillende concentraties zuurstof en kooldioxide en bij verschillende temperaturen. Het blootstellen van het produkt aan constante omstandigheden is in feite een simulatie van de mogelijk op te treden evenwichtstoestanden in verpakkingen.

jaar 2:

- Ontwikkeling model: relatie externe factoren - kwaliteit
- De invloed van verschillende luchtvochtigheden bij verschillende temperaturen (beter nog: de invloed van een verschil in dampdruktekort) op de kwaliteit
- De respiratiesnelheid bij verschillende constante concentraties zuurstof en kooldioxide en bij verschillende temperaturen. Daarnaast wordt de snelheid waarmee de ademhaling zich aan een veranderende luchtsamenstelling aanpast onderzocht. Dit is in feite een simulatie van een produkt in een verpakking.
- (Het onderzoek naar de eigenschappen van verschillende verpakkingsmaterialen zal binnen een ander projekt plaatsvinden)

jaar 3:

- Ontwikkeling model: relatie kwaliteit - interne processen
- Achtergrondonderzoek stevigheid en groei: hoe beïnvloeden zuurstof, kooldioxide en dampdrukte kort de verschillende aspecten van stevigheid (turgor, celwandsmenstelling)
- Achtergrondonderzoek kleur: op welke wijze beïnvloeden zuurstof en kooldioxide de bruinverkleuring
- Achtergrondonderzoek vlekken: op welke wijze beïnvloeden zuurstof en kooldioxide de groei van de vlekken (invloed op bacteriegroei?)

jaar 4:

- Combinatie verpakkingsmodel en kwaliteitsmodel
- Validatie-onderzoek: de controle van het model en de bijbehorende data door middel van een onafhankelijk experiment. Diverse verpakkingsmaterialen (die vooraf op diffusie-eigenschappen zijn geselecteerd) worden samen met champignons aan verschillende omstandigheden blootgesteld.
- Aanpassing (eventueel) van het model

B. Verslag van de werkzaamheden in 1992-1

Modellering

De ontwikkeling van een model, dat het verloop van de kwaliteit van champignons bij verschillende luchtsamenstellingen kan aangeven, is gestart. Het verloop van gasconcentraties in een verpakking als gevolg van respiratie en diffusie kan worden berekend. Ook de invloed van de temperatuur, en van temperatuurveranderingen (gekoeld - niet gekoeld) kan worden berekend.

Het model is gebaseerd op bekende fysische processen. De constanten die in de formules gebruikt worden, zijn waarden uit de literatuur (ondermeer Lelie et al., 1988). Deze waarden zijn echter niet helemaal volledig en betrouwbaar. Respiratiemetingen (bij diverse concentraties) en diffusiemetingen van diverse verpakkingsmaterialen moeten de ontbrekende kennis aanvullen. De volgende stap is het inbouwen van de invloeden van de ontstane concentraties op de champignons in de verpakking.

Opstelling respiatiemetingen

Om te kunnen berekenen welke (evenwichts-)concentraties in een verpakking zullen ontstaan en hoe lang het duurt voor deze concentraties ontstaan, moeten er nauwkeurige metingen aan het produkt worden uitgevoerd. Om dit te kunnen doen is een Chrompack CP-2001 (een uiterst snelle en nauwkeurige gaschromatograaf) aangeschaft. De installatie en calibratie heeft inmiddels plaatsgevonden. Na benutting van de meetgegevens in het bestaande model zullen de voorspellingen van de te ontstane evenwichts-concentraties aanzienlijk aan betrouwbaarheid winnen.

Vergelijking fasering 1992 met resultaten 1992-1

De fasering 1992 wordt gevolgd.

Werkzaamheden 1992-2

Aanpak

Voor het verpakkingsmodel is het noodzakelijk om inzicht te krijgen in de respiratie van champignons. Gemeten zal worden:

- de respiratie bij verschillende constante concentraties zuurstof en kooldioxide, en constante temperatuur
- de RQ (verhouding kooldioxide-afgifte / zuurstofopname)
- de snelheid waarmee de respiratie zich aanpast aan veranderende temperaturen en concentraties zuurstof en kooldioxide
- de verandering van de respiratie tijdens de veroudering

Variabelen experiment 1 (respiratie)

temperatuur (°C)	: 2, 8, 18
relatieve luchtvochtigheid (%)	: 90, 99
concentratie O ₂ (%)	: 0.5, 1, 2, 4, 8, 14, 21
concentratie CO ₂ (%)	: 0.05, 1, 2, 4, 8, 12
bewaarduur (dagen)	: 14
tijd tussen metingen (dagen)	: 1

Om transpiratie/uitdroging van het produkt te minimaliseren, is het van belang om de luchtvochtigheid hoog te houden. In een gesloten verpakking (noodzakelijk voor MA) kan een hoge luchtvochtigheid rond het produkt worden gehandhaafd. Een te hoge luchtvochtigheid vergroot echter de kans op condensatie; op het produkt kan een laagje vocht ontstaan (vooral bij temperatuurschommelingen). Dit kan de microbiële groei stimuleren. Daarom moet naast het optimaliseren van de zuurstof- en kooldioxide-concentraties in een verpakking ook de luchtvochtigheid binnen bepaalde grenzen gehouden worden. Om te kunnen aangeven welke luchtvochtigheid (mate van indroging) optimaal of acceptabel is, zal een bewaarexperiment worden uitgevoerd. Om een eventuele interactie met de

luchtsamenstelling te onderzoeken zal ook de (waarschijnlijk) optimale luchtsamenstelling worden aangeboden.

Variabelen experiment 2 (uitdroging)

temperatuur (°C)	: 8, 18
relatieve luchtvochtigheid (%)	: 90, 99
concentratie O ₂ (%)	: 2, 21
concentratie CO ₂ (%)	: 0.05, 7
bewaarduur (dagen)	: 12
tijd tussen metingen (dagen)	: 3

Fasering

De fasering 1991-1995 wordt in 1992 gevolgd.

HET ISOENZYM MET EEN LAAG ISOELEKTRISCH PUNT VAN TYROSINASE UIT *AGARICUS BISPORUS* IS EEN GLYCOPROTEINE

Harry J. Wichers

Inleiding

Bruinverkleuring van champignons is vanuit commercieel oogpunt een ongewenst fenomeen. Deze bruinverkleuring wordt veroorzaakt door de oxydatie van γ -glutamylhydroxybenzeen, het meest voorkomende substraat voor tyrosinase in *Agaricus*, en leidt uiteindelijk tot de vorming van donkergekleurde melanines [1]. Tyrosinases (EC 1.14.18.1) behoren tot de polyphenoloxidasen (PPO's). Tot deze groep enzymen behoren ook de laccases (EC 1.10.3.1) [2]. Bij *Agaricus* is vastgesteld dat laccase een glycoproteïne is dat wordt uitgescheiden door het mycelium. Dit glycoproteïne is een polypeptide dat ongeveer 15% koolhydraat bevat [3]; het enzym speelt vermoedelijk een rol bij de afbraak van lignine in de compost en wordt niet intracellulair of gebonden aan de vruchtlichamen aangetroffen [zie eerdere voortgangsrapportages].

Het tyrosinase van *Agaricus* is gedetailleerd beschreven met betrekking tot de polypeptidesamenstelling [4,5]. Het *Agaricus*-tyrosinase komt voor als een aantal isoenzymen, die goed gescheiden kunnen worden met behulp van Hydroxylapatiet chromatografie [6]. De isoenzymen kunnen ook met behulp van isoelektrische focussing onderscheiden worden [7]. In het algemeen worden, gebaseerd op aktiviteitskleuring, 1-2 isoenzymen met een relatief laag (4-4.5) isoelektrisch punt en een aantal isoenzymen met een hoger isoelektrisch punt (4.5-5.5) aangetroffen [8]. Tot dusver zijn voor dit type enzym geen geglycosyleerde vormen beschreven voor de champignon.

In dit verslag wordt aangetoond, met behulp van chromatografische en elektroforetische methoden, dat een gedeelte van het isoenzym met een laag isoelektrisch punt van tyrosinase uit de vruchtlichamen van *Agaricus bisporus* U1 een glycoproteïne is.

Materiaal en methoden

Bereiding van het enzymextract. 55 Gram drooggevroren en verpulverde vruchtlichamen van *A. bisporus* U1, tweede vlucht, geoogst in stadium 3-4 [15,16], werden gesuspenderd in 1100 ml. ijskoude natriumfosfaatbuffer pH 6.5, met daarin 2% actieve kool en 1 mM PMSF. Het mengsel werd in tweeën verdeeld en beide delen werden gehomogeniseerd met een Ultra-Turrax gedurende 5x1 min, met intervallen van 0.5 min, onder koelen in ijs. Het homogenaat werd gefiltreerd over Whatman no. 1 filter papier.

Kolomchromatografie. Het filtraat (900 ml) werd opgebracht op een Hydroxylapatiet Bio-Gel HT kolom (BioRad) (2.6x85 cm) die van tevoren was geëquilibreerd met 5 mM natriumfosfaatbuffer pH 6.5. De kolom werd geëluëerd met 500 ml 5 mM buffer, een lineaire gradiënt van

5 tot 400 mM buffer in 2000 ml en 500 ml 400 mM buffer. De geleidbaarheid van het eluaat werd gemeten met een CDM 80 geleidbaarheidsmeter (Radiometer, Kopenhagen). De enzymfrakties werden gepoold, gedialyseerd tegen 4x6 l 10 mM ammoniumacetaatbuffer pH 6.5 en gevriesdroogd. Een Concanavale-A-Sepharose-kolom (2.6x19 cm) werd geëquilibreerd met 5 mM natriumfosfaatbuffer pH 6.5 met 0.1% Triton X-100 (buffer A). De gevriesdroogde pools (met maximaal 30 mg eiwit) werden opgelost in een klein volume buffer A en opgebracht op de kolom. De kolom werd geëluëerd met respectievelijk 300 ml buffer A, 300 ml buffer A met 1 M α -methylmannopyranoside, en 300 ml buffer A met 1 M NaCl. De enzymfrakties werden gepoold, gedialyseerd tegen 10 mM ammoniumacetaatbuffer pH 6.5 en gevriesdroogd.

Enzymassays. De tyrosinase-activiteit werd spectrofotometrisch gemeten: 2.6 ml 100 mM natriumfosfaatbuffer pH 6.5 (buffer B), bevattende 17.2 mM L-DOPA en 0.12 % SDS, verzadigd met lucht, werd gemengd met buffer B en enzymoplossing tot een totaalvolume van 3 ml, bij 25 °C. De absorptietoename bij 478 nm werd gemeten en omgerekend naar katalen met behulp van de extinctiecoëfficiënt ($3313 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$) voor het oxidatieproduct [17]. Laccaseactiviteit werd gemeten met guaiacol als substraat.

Isoelektrische focussing. Isoelektrische focussing werd uitgevoerd op kant en klare mini-gels van Pharmacia, scheidingsbereik 4-6.5. Gekleurd werd op activiteit met behulp van een L-DOPA-oplossing in 100 mM natriumfosfaatbuffer pH 6.5 of op glycoproteïne met behulp van de PAS-kleuring.

Resultaten en discussie

Fractionering van een *A. bisporus*-homogenaat op een Hydroxylapatiet-kolom resulteerde in een ongebonden fractie met $\pm 4\%$ van de totale tyrosinase-activiteit van het homogenaat (Fig.1, tabel 1). Deze fractie bevatte een isoenzym van tyrosinase met een isoelektrisch punt van ~ 4.5 . De in de fosfaatgradient eluerende tyrosinase-fractie bevatte een klein gedeelte met eveneens een isoelektrisch punt van ~ 4.5 , terwijl het grootste deel een isoelektrisch punt van ~ 5 had (Fig. 2).

Verdere fractionering van de ongebonden fractie op een Sepharose-kolom met daaraan Concanavale A als ligand gekoppeld wees uit dat een gedeelte van deze fractie ($\sim 50\%$) op de kolom werd vertraagd. Deze vorm kon slechts met 1 M NaCl worden geëluëerd (Tabel 2). Dit was de eerste aanwijzing dat deze isoenzymvorm, ongeveer 2% van de totale tyrosinase-activiteit vormend, een glycosidisch karakter heeft. Fractionering van andere van de Hydroxylapatiet-kolom eluerende pools toonde aan dat slechts de vorm met een laagisoelektrisch punt die in de gradient elueerde in aanzienlijke mate op Concanavale-A-Sepharose werd vertraagd (een gemiddelde van 60% bij 5 herhalingsexperimenten). Ook deze vorm kon slechts met concentraties van 1M α -methylmannopyranoside of NaCl worden geëluëerd. De isovormen met een hoger isoelektrisch punt werden in veel mindere mate ($\sim 10\%$) vertraagd

door ConA-Sepharose (tabel 2).

Isoelektrische focussing van de glycoproteïne-achtige fraktie van tyrosinase, gecombineerd met kleuring op tyrosinase-aktiviteit en op glycoproteïnen, leverde op dat de tyrosinase-aktiviteit geassocieerd was met het voorkomen van een glycoproteïne (Fig. 3).

De mogelijkheid dat deze fraktie desalniettemin een kleine hoeveelheid laccase bevatte werd uitgesloten door enzymassays met tyrosine als substraat, wat uitwees dat de glycoproteïne-fraktie tyrosine kon hydroxyleren, en met guaiacol, een substraat specifiek voor laccases, waarmee geen reactie werd waargenomen (niet getoond).

Uit deze experimenten kan worden geconcludeerd dat een klein gedeelte (2-3%) van de totale intracellulaire of cel-geassocieerde tyrosinase-aktiviteit van *A. bisporus* U1 een glycoproteïne is.

De fysiologische functie van dit isoenzym is vooralsnog niet duidelijk. Het zou een rol kunnen spelen bij de regulatie van de aktiviteit van tyrosinase van *A. bisporus*, welke in aktieve en in latente vormen voorkomt [9]. Voor het tyrosinase van humane melanomacellen is glycosylering als reguleringsmechanisme gesuggereerd [10]. Bij *Agaricus* zou, eventueel gedeeltelijk, een soortgelijk mechanisme aan de regulatie kunnen bijdragen. Daarnaast blijft echter de mogelijkheid open dat een scala aan regulatie-mechanismen die voor andere tyrosinases zijn gesuggereerd, zoals protonering en hysteresis [11], conformatieveranderingen [12], de binding van polyamines [13], en de verwijdering van peptiden [14], evenzeer een rol spelen.

Referenties

1. Boekelheide K., Graham D.G., Mize P.D. and Jeffs P.W. (1980) *J. Biol. Chem.* **255**, 4766
2. Mayer A.M. and Harel E. (1991) In: *Food Enzymology*, p. 373-398, Ed. Patrick F.Fox, Elsevier London
3. Wood D.A. (1980) *J. Gen. Microbiol.* **117**, 327
4. Strothkamp K.G., Jolley R.L. and Mason H.S. (1976) *Biochem. Biophys. Res. Comm.* **70**, 519
5. Robb D.A. and Gutteridge S. (1981) *Phytochemistry* **20**, 1481
6. Robb D.A. (1979) *Biochem. Soc. Trans.* **7**, 131
7. Roux P. and Labarère J. (1990) *Exp. Mycol.* **14**, 101
8. Flurkey W.H. (1991) *J. Food Sci.* **56**, 93
9. Yamaguchi M., Hwang P.M. and Campbell J.D. (1970) *Can. J. Biochem.* **48**, 198
10. Takahashi H. and Parsons P.G. (1992) *J. Invest. Dermatol.* **98**, 481
11. Valero E. and García-Carmona F. (1992) *Plant Physiol.* **98**, 774
12. Moore B.M. and Flurkey W.H. (1990) *J. Biol. Chem.* **265**, 4982
13. Jiménez-Atiéndar M., Pedreño M.A., García-Ramón F. (1991) *Biochem. Int.* **25**, 861
14. Kenten R.H. (1957) *Biochem. J.* **67**, 300
15. Hammond J.B.W. and Nichols R. (1975) *J. Sci. Fd Agric.* **26**, 835

16. Hammond J.B.W. and Nichols R. (1976) J. Gen. Microbiol. **93**, 309
17. Wichers H.J., Peetsma G.J., Malingré Th.M. and Huizing H.J. (1984) *Planta* **162**, 334

Tabel 1. Fraktionering van een *A. bisporus* U1-homogenaat op Hydroxylapatiet Bio-Gel HT. De vermelde waarden zijn gemiddelden van vier herhalingen.

	Eiwit mg	Aktiviteit µkatal	Specifieke aktiviteit µkatal.mg ⁻¹	pI	fosfaat*) mM
Homogenaat	1.6x10 ³	3.6x10 ²	0.22		
Ongebonden	0.2x10 ³	1.5x10 ¹	0.07	4.5	5
Pool I	4.4x10 ¹	5	0.11	4.5	80
Pool II-	6x10 ²	1.7x10 ²	0.29	5-5.6	160

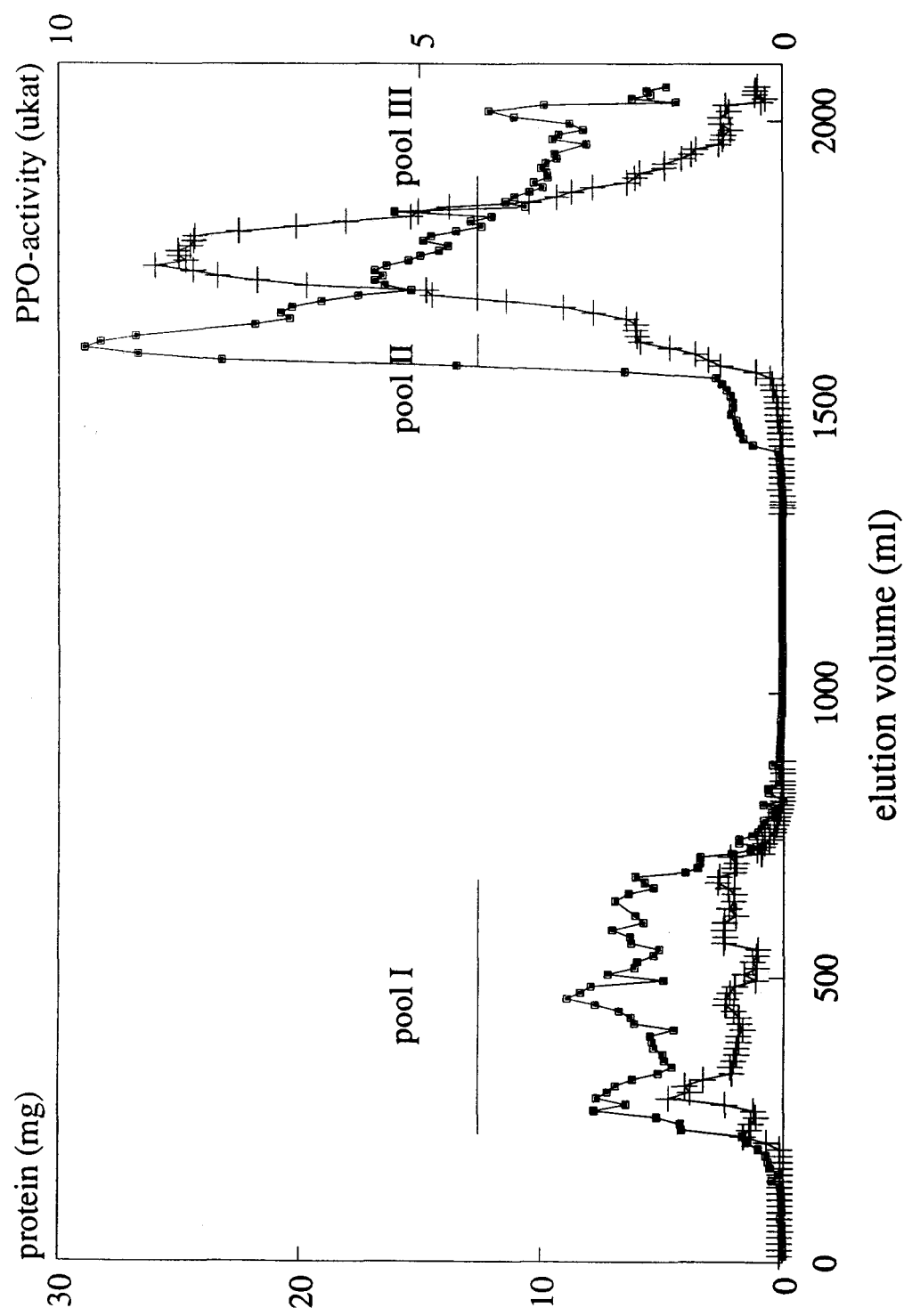
Tabel 2. Fraktionering van tyrosinase-pools van *A. bisporus* U1, verzameld na Hydroxylapatiet chromatografie, op Concanavalin-A-Sepharose. De gegevens van een aantal afzonderlijke experimenten op òf een kleine (5 ml) kolom, beladen met ongeveer 2 mg eiwit, òf een grote (100 ml) kolom, beladen met 10-20 mg eiwit, zijn vermeld.

Opgebracht:			Eluerend met:			1M MMP			1M NaCL		
			Buffer								
	Eiwit mg	Aktiviteit µkatal	Eiwit mg	Aktiviteit µkatal	Eiwit mg	Aktiviteit µkatal	Eiwit mg	Aktiviteit µkatal	Eiwit mg	Aktiviteit µkatal	Aktiviteit µkatal
HAP-ongebonden	25.1	2.5	6.1	0.03	nd ^{*)}	bd ^{*)}	10	1.4			
	21.7	0.6	9.6	0.14	7.0	bd ^{*)}	5.2	0.2			
	22.5	1.0	7.2	0.11	4.5	bd ^{*)}	4.1	0.34			
	19.4	1.2	8.1	0.27	4.0	bd ^{*)}	4.7	0.33			
	21.9	1.5	7.6	0.76	8.0	bd ^{*)}	5.5	0.54			
HAP-pool I	1.9	0.45	0.3	0.005	0.24	0.29	0.3	0.02			
	18.0	3.0	2.4	0.019	5.8	bd ^{*)}	9.4	1.74			
HAP-pool II	2.5	0.97	0.5	0.25	1.0	bd ^{*)}	0.6	0.09			
	11.0	2.8	1.6	0.53	2.1	0.14	5.9	0.95			

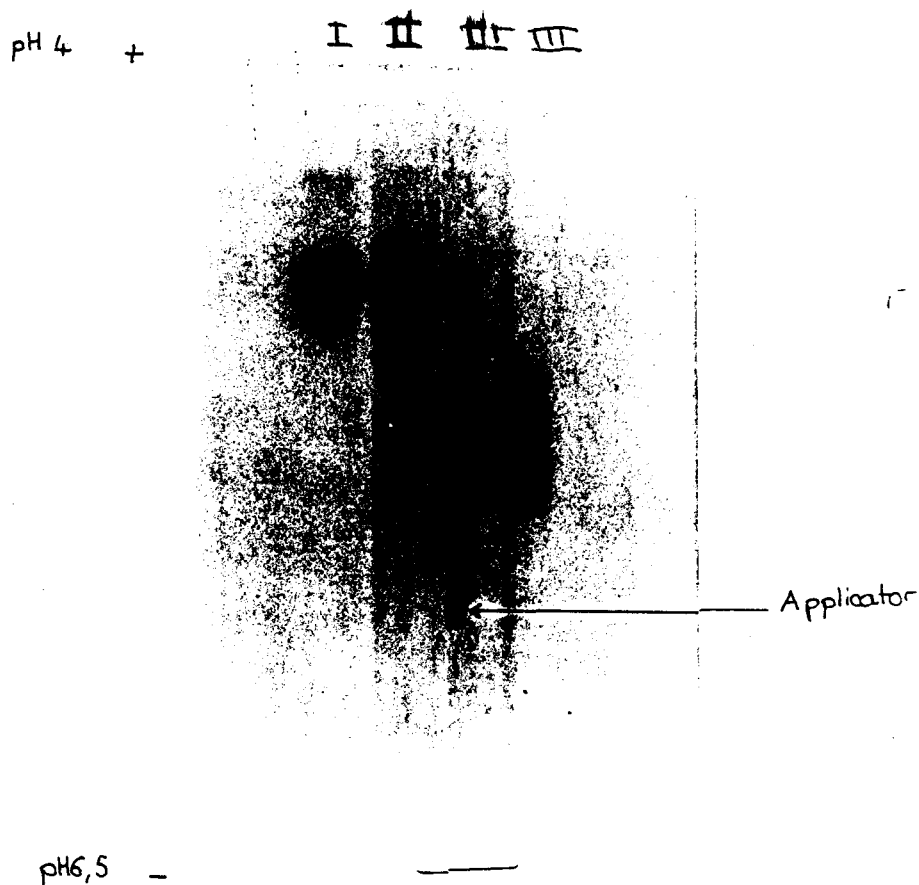
^{*)} nd = niet bepaald

^{*)} bd = onder detectie-limiet

Figuur 1. Fraktionering van een *A. bisporus*-homogenaat op Hydroxylapatiet Bio-Gel HT.



Figuur 2. Isoelectrische focussing van de na Hydroxylapatiet-chromatografie verzamelde tyrosinase-pools. Kleuring op tyrosinase-aktiviteit.



Figuur 3. Isoelectrische focussing van de op Concanavaline-A-Sepharose gebonden tyrosinase-fractie. Kleuring op aktiviteit (links) of op glycoproteinen (rechts).



ONDERZOEK NAAR FAKTOREN DIE BEPALEND ZIJN VOOR DE VERWERKINGSVERLIEZEN VAN CHAMPIGNONS

E. Schijvens

1. Technologisch onderzoek

1.1. Nader onderzoek "ATO procédé"

Uit het onderzoek van de vorige periode is gebleken dat het "ATO procédé" een hoger gewichtsrendement geeft dan de conventionele wijze van verwerken. In de afgelopen onderzoeksperiode zijn de effecten van een aantal processtappen zoals koelen en de tijdsduur tussen het overbrengen van de champignons van het koelwater naar de verpakking, nader onderzocht om daarmee een eventuele vereenvoudiging van het "ATO procédé" mogelijk te maken.

Tabel 1. Het effect van de factor koelen op het gewichtsrendement (%) van champignons in vergelijking met het ATO procédé.

ATO procédé	Behandeling	
	koelen met warm water	koelen met koud water
77,0 a	75,3 b	74,6 b

waarden met gelijke letters verschillen niet significant van elkaar ($p < .05$)

Het koelen met warm water is toegepast om te kunnen corrigeren voor het eventuele effect van de handelingen die worden uitgevoerd bij het koelen. Uit tabel 1 blijkt dat koelen met koud water en koelen met warm water geen significant verschil geeft. Er is wel een verschil in het gewichtsrendement tussen de beide koelbehandelingen en het ATO procédé. Deze resultaten duiden op een nadelig effect van koelen, die echter niet veroorzaakt wordt door het temperatuureffect, maar door extra handelingen die bij het koelen worden uitgevoerd.

Tabel 2. Het effect van de tijdsduur van het overbrengen van de champignons van het koelwater naar de verpakking op het gewichtsrendement in vergelijking met het ATO procédé.

ATO procédé	Transport		
	10 s	5 min	10 min
77,2 a	76,8 a	75,0 b	74,5 b

waarden met gelijke letters verschillen niet significant van elkaar ($p < .05$)

Uit tabel 2 blijkt dat er geen significant verschil is tussen het ATO procédé en een korte transporttijd van 10 seconden. Dit verschil is wel significant als de duur van het transport 5 of 10 minuten is. Deze experimenten zijn modelmatig uitgevoerd met kleine hoeveelheden (4 champignons per blik). Een herhaling met grotere hoeveelheden op pilot-plant schaal moeten nog worden uitgevoerd.

1.2. Effect van de samenstelling van de opgië

Het verwerkingsproces van champignons tot gesteriliseerd product is eerder in een modelonderzoek stap voor stap doorgelicht op alle varianten die denkbaar zijn. Deze resultaten zijn samengevat in het verslag van februari 1992. Hierbij bleek het zoutgehalte van de opgië een van de factoren die effect hebben op het gewichtsrendement. Een vervolgonderzoek is uitgevoerd om beter te begrijpen waarom het zoutgehalte een negatief effect heeft op het gewichtsrendement.

In dit vervolgonderzoek is nagegaan of:

- Het effect van het zout in de opgië bij de pilot-plant verwerking vergelijkbaar is met het effect dat het zout had in het modelonderzoek;
- Het effect van het zout in de opgië veroorzaakt wordt door de ionogene - of de osmotische eigenschappen van het zout.

a. Uit het model onderzoek bleek dat in vergelijking met water als opgië een opgië waarin 1% NaCl en 0.1 % citroenzuur was opgelost er na het steriliseren 4,2 % minder aan gewicht champignons aanwezig was. In deze modelproef werden echter maar 4 champignons per blik verwerkt waardoor de verhouding tussen champignon en opgië niet overeenkomt met de omstandigheden in de praktijk. Daarom is het effect van de samenstelling van de opgië bepaald waarbij partijen van 2 kilo champignons op pilot-plant schaal zijn verwerkt. Het effect van de samenstelling van de opgië is onderzocht in combinatie met het al of niet snijden van de champignons, omdat uit het modelonderzoek was gebleken

dat het effect van het zout in de opgiel voor gesneden champignons groter is dan voor hele champignons. In Tabel 3 zijn de resultaten hiervan weergegeven.

Tabel 3. Gewichtsrendementen met water en een oplossing van 1% NaCl en 0.1% citroenzuur als opgiet voor hele- en gesneden gesteriliseerde champignons bij de standaard pilot-plant verwerking.

presentatievorm van champignons	Samenstelling van de opgiet	
	water	1% NaCl en 0.1% citroenzuur
gesneden	67,6 % a	65,4 % b
heel	67,6 % a	66,5 % c

waarden met gelijke letters verschillen niet significant van elkaar ($p < .05$)

Het effect van zout en citroenzuur in de opgiet is minder groot (gemiddeld 1,5 %) dan in het model onderzoek (gemiddeld 4%). De verhouding tussen de hoeveelheid champignons en opgiet (ca 1 : 3 in model proef en 1: 1 in standaard verwerking) is kennelijk van invloed op het effect dat de samenstelling heeft op het gewichtsrendement. Evenals in het modelonderzoek, is ook bij de standaard verwerking het effect van de samenstelling van de opgiet groter bij de gesneden - dan bij de hele champignons.

b. Het effect dat de samenstelling van de opgiet heeft op het verwerkingsrendement, kan veroorzaakt worden door de lading die de ionen bezitten (ionogene factor) of door het onttrekken van water uit de champignons naar de opgiet waar de zout concentratie aanvankelijk hoger is dan in de champignons (osmotische factor). Onderzocht is welke van deze twee factoren verantwoordelijk is voor het effect dat de samenstelling van de opgiet heeft.

Als het effect van de samenstelling van de opgiet een ionogene factor is, dan is de lading van de ionen erg belangrijk. Dit zou betekenen dat het effect van de toegevoegde zouten sterk afhangt van de waardigheid van de ionen van de betreffende zouten. Bovendien zou in het geval van een ionogeen effect als oorzaak, het toevoegen van een neutrale stof die wel een osmotische eigenschap bezit maar geen gelade groepen heeft, (bijvoorbeeld suiker) geen effect op het rendement moet hebben. Om dit te onderzoeken zijn champignons verwerkt waarbij de opgiet bestaat uit oplossingen van zouten met verschillende waardigheid en een oplossing van suiker. Het gewichtsrendement van champignons verwerkt met de opgieten met deze samenstelling, is weergegeven in figuur 1.

Uit figuur 1 blijkt dat de relatie tussen het rendement en de osmotische waarde sterk afhangt van de stof die in de opgieter is opgelost. Suiker in de opgieter heeft geen of nauwelijks effect op het verwerkings-

rendement. Keukenzout met eenwaardige ionen heeft wel een effect op het rendement maar dat effect is veel kleiner dan van $MgSO_4$ en $NaCitraat$. $MgSO_4$ met twee maal een twee-waardig ion en $NaCitraat$ met een eenwaardig ion en een

driewaardig ion hebben dus een veel groter effect op het rendement dan keukenzout met twee een-waardige ionen. Uit deze resultaten blijkt dan ook dat het effect door de ionogene eigenschappen van het zout wordt veroorzaakt en niet door de osmotische factor.

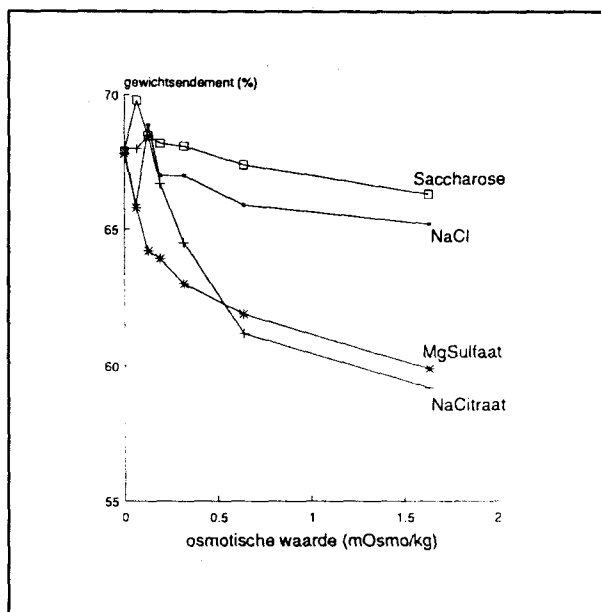


Fig. 1 Het verwerkings-rendement van champignons met in de opgieter opgelost saccharose, $NaCl$, $MgSO_4$ en Na -citraat.

2. Histologisch onderzoek

Uit het onderzoek van de voorgaande periode is gebleken dat de dichtheid van het weefsel binnen een champignon uiteenloopt en dat de mate van slinken van dit weefsel omgekeerd evenredig is met de dichtheid van dat weefsel. Uit opnamen met een Scanning electronenmicroscop (SEM) bleek dat het weefsel met grote verschillen in dichtheid ook grote verschillen vertoonde in de vorm van de cellen.

In de afgelopen periode is gewerkt aan een methode om deze verschillen in de vorm van de cellen te kwantificeren. Hiervoor moet uit microscopische beelden de lengte, de breedte en het oppervlak van de cellen worden gemeten. Voor dit doel is een specifieke kleuring van chitine (wheat germ agglutinin gelabeld met fluoresceïn isothiocyanaat) uitgetest. Deze kleuring is een goede basis voor het kwantificeren van de celdimensies. De procedure om de celdimensies te kwantificeren moet nog verder ontwikkeld worden.

In de afgelopen periode is ook het effect van dichtheid op het gewichtsrendement nader onderzocht. Per champignon is de dichtheid gemeten en zijn deze champignons afzonderlijk gesteriliseerd. In dit experiment blijkt de dichtheid een significante invloed te hebben op het gewichtsrendement. Overigens blijkt ook dat er tussen de herhalingen significante verschillen bestaan. Dit betekent dat niet uitsluitend met de dichtheid het gewichtsrendement te voorspellen is.

In figuur 1 is de relatie tussen de dichtheid van het weefsel en het rendement weergegeven.

Hierin is te zien dat de dichtheid van het champignonweefsel een significante relatie heeft met het gewichtsrendement maar dat het geen enkelvoudige relatie is. In het vervolgonderzoek zal gepoogd worden de relatie tussen het gewichtsrendement en de dichtheid van het weefsel meer eenduidig vast te stellen.

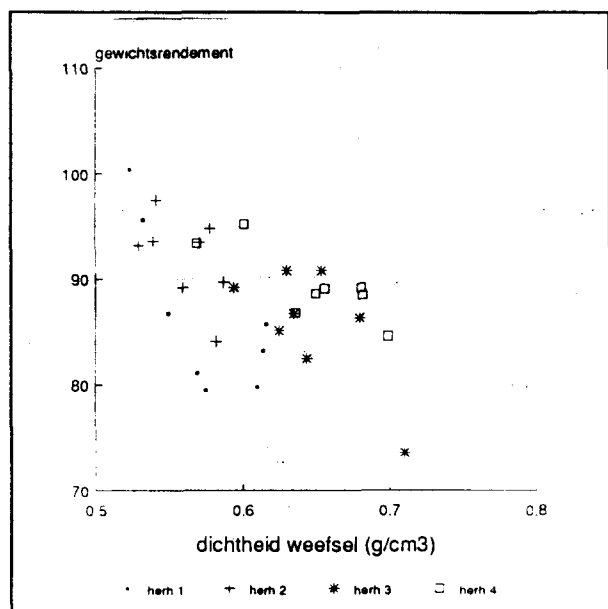


Fig.2 Het gewichtsrendement van champignons in relatie tot de dichtheid van het weefsel.

DE ONTWIKKELING VAN VERWERKINGSTECHNIEKEN VOOR CHAMPIGNONPRODUKTEN

P. Bartels en G. van Laarhoven

A. Verslag over eerste helft van 1992

Het onderzoek is gericht op technologieën om produkten uit champignons te vervaardigen die voor de consument aantrekkelijk zijn omdat ze:

- * direkt toepasbaar zijn en makkelijk te gebruiken zijn bij de bereiding van de maaltijd
- * lang houdbaar zijn
- * nieuw zijn, zoals snacks
- * smakelijk zijn

Het onderzoek is dan ook gedeeltelijk gebaseerd op sensorische analyses van de resultaten van de bewerkingen, zoals blancheren en frituren.

In het afgelopen half jaar is veel tijd besteed aan de vertaling van begrippen als taatheid in objectieve termen, zoals drukverandering als functie van de verplaatsing met een Instron om meer inzicht te krijgen in het effect van de behandelingen op de textuur.

Onderzoek is verricht naar het effect van

- * de wijze van blancheren
- * osmotisch drogen als voorbehandeling
- * de wijze van invriezen
- * de toepassing van evacuatievloeistoffen met verdikkingsmiddelen bij het water.

Invloed procesomstandigheden bij blancheren op de kwaliteit

Voor de eindprodukten is het vaak nodig om te blancheren, zodat geen verkleuring optreedt en geen ongewenste slinking van de champignon optreedt bij bijvoorbeeld het frituren van gecoate produkten, waardoor loslating zou optreden. Onderzocht zijn het slinken, het uittreden van vocht bij samendrukken, de textuur van de champignon na blancheren, en de kleur.

In tabel 1 is de invloed op de kleur van de blancheertemperatuur en het diepvriezen weergegeven.

Een negatieve A-waarde betekent een groenere tint, terwijl een positieve waarde een rodere kleur betekent. Bij de B-waarde loopt de kleur van blauw naar geel. Een grotere L-waarde betekent een grotere witheid. De resultaten lopen naar iets groen en geel. Dit betekent in de praktijk dat de champignon een grauwe tint heeft met geelkleuring. Bij blancheren nemen grauwheden en gele kleur toe volgens deze direkte bepaling. De hoed onderscheidt zich hierbij. Bij de meeste proeven wordt de zijkant grauwer dan de hoed.

Het produkt uit de diepvries valt bij blancheren verder terug in witheid dan de gekoelde champignons. Door de temperatuurbehandeling wordt de

champignon als taai tot duidelijk taai beoordeeld. Hierbij neemt de kwaliteit van de textuur meer af bij de oorspronkelijk ingevroren produkten dan bij de gekoelde champignonschijfjes, ook ten opzichte van de geëvacueerde schijfjes. Deze laatste zijn minder in kwaliteit dan de gekoelde en bovendien smaken ze waterig, zoals te verwachten is. De snelheid van invriezen is bij proeven met verschillende dikten van schijfjes niet significant gebleken voor de taaiheid.

Tabel 1. Invloed van blancheren op de kleur en de taaiheid (verklaring in de tekst).

INVLOED BLANCHEERTEMPERATUUR EN DIEPVRIEZEN
OP KLEUR EN TEXTUUR

Temp	Kleur					
	A-waarde		B-waarde		L-waarde	
	totaal	hoed	gekoeld diepvries		gekoeld diepvries	
niet geblanch	0-.5		12		90	
70	-2	-3	20	20	80	72
95	-1	-2.5	16	20	80	72

Textuur sensorisch		
Temp.	taai (0-5)	
70/95	gekoeld	1
70	diepvries	2.5
95	diepvries	3.5

Toevoeging van alginaten in de evacuatievloeistof

Ter vermindering van slinken is evacuatie gewenst. Nadeel vormt, zoals genoemd, een waterige smaak bij het eindprodukt. Door toevoeging van alginaten in de evacuatievloeistof ontstaat een champignonprodukt dat minder slinkt na blancheren. Dit resultaat is weergegeven in tabel 2. Tevens is het effect aangegeven van een microgolf/stoombehandeling als vervanging van het blancheren met heetwater. Duidelijk is dat alginaten een aanmerkelijk geringere krimp (%) en gewichtsverlies geven. Het gevonden effect is wel tijdelijk, zoals de resultaten na 12 uur aangeven.

Bij proeven, waarbij eerst alginaat is toegevoegd in het evacuatiewater en later Calciumionen zijn opgezogen in de champignons, waardoor een gel in het produkt ontstaat, is zelfs een gewichtsvermeerdering na blancheren

ten opzichte van het rauw produkt mogelijk.

In tabel 3 is per bewerkingstap aangegeven hoeveel vocht is uitgetreden bij het samenpersen van produkten met de Instron na de diverse bewerkingen. Opvallend is de hoeveelheid vocht, die uittreedt na blancheren en diepvriezen ongeacht de soort evacuatievloeistof. Na (voor)frituren scoort de evacuatievloeistof met alginaat beter. Dit betekent dat alginaten minder wateruittreding in de mond geven bij het eten van het eindprodukt en daarmee positief effect hebben op de kwaliteit.

Tabel 2. Effect van wijze van blancheren en soort evacuatievloeistof op de wateruittreding

BLANCHEREN

Vergelijking water-microwave

	KRIMP		GEWICHTSVERLIES	
			DIREKT/ na 12 uur	
Evacuatievloeistof :	ALIGINAAT	WATER	ALGINAAT	WATER
1) WATER (95oC,10 min)	13.2	22.6	6/ 12	24/ 27
2) MICROWAVE/STOOM (ca.2 min.,ca 70oC)	14.5	19.3	6/ 23	16/ 33

Tabel 3. Uittreding van het vocht na diverse bewerkingen bij samenpersing op een Instron

Uitgetreden hoeveelheid vocht (%)

	<u>Alginaat</u>	<u>Water</u>
geblancheerd	7.5	11
geblancheerd, diepgevroren	48	48
voorgefrituurd, diepgevroren	22	32
nagefrituurd	0.04	0.5

Smaak en textuur

Om na te gaan wat de invloed van zout, eventueel nodig bij de verwerking, is op de smaak van het produkt na blancheren, heeft een panel champignons met een zoutgehalte in de evacuatievloestof tot 5 % geproefd (figuur 1). Hierbij blijkt dat de waardering voor de zoute smaak van de champignons ongeveer gelijk blijft. Een verklaring hiervoor kan zijn, dat het zout niet evenredig met de zoutconcentratie wordt opgenomen in de champinon.

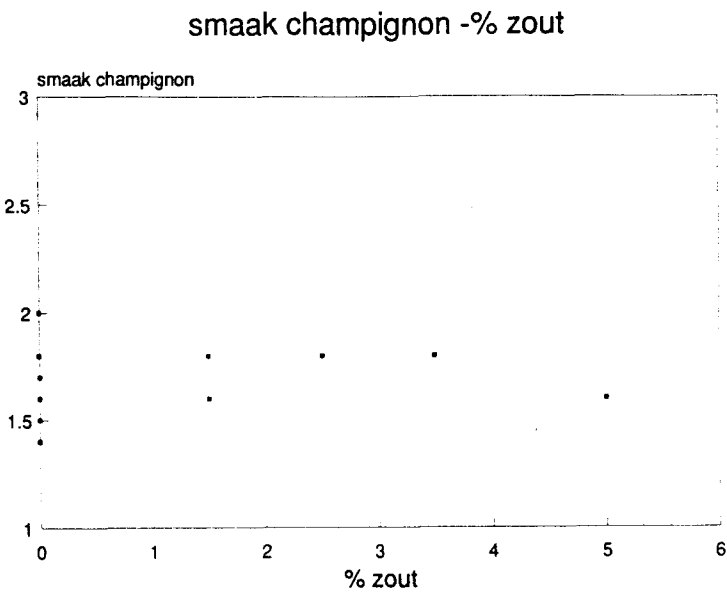
Een belangrijk aspect van het onderzoek vormt de objectivering van de textuurbegrippen zoals taaheid en stevigheid. In figuur 2 is een drukmeting met een "Instron"meter op een champignon uitgezet als functie van de verplaatsing, c.q. de indrukking. Hierbij zijn de hellingshoek en de maximumdruk karakteristiek voor de materiaaleigenschappen van het champignonschijfje.

In figuur 3 zijn de bepalingen voor de stevigheid door een proefpanel met een schaal van 1 tot en met 7, waarbij 7 zeer stevig aangeeft, gerelateerd aan de maximaal uitgeoefende kracht. In de aangegeven punten kan onder voorbehoud een eenduidig verband gezien worden. Voor de beoordeling van de taaheid is de helling genomen. Gezien het wisselend verloop van een helling, is deze maat minder duidelijk. Voor de navolgende figuren is de gemiddelde hellingshoek genomen van de waarden tussen een kwart en driekwart van de maximale druk. In figuur 4 is de relatie tussen de sensorische en de Instron-bepalingen aangegeven. Ook hier is een directe relatie herkenbaar, zij het met meer moeite.

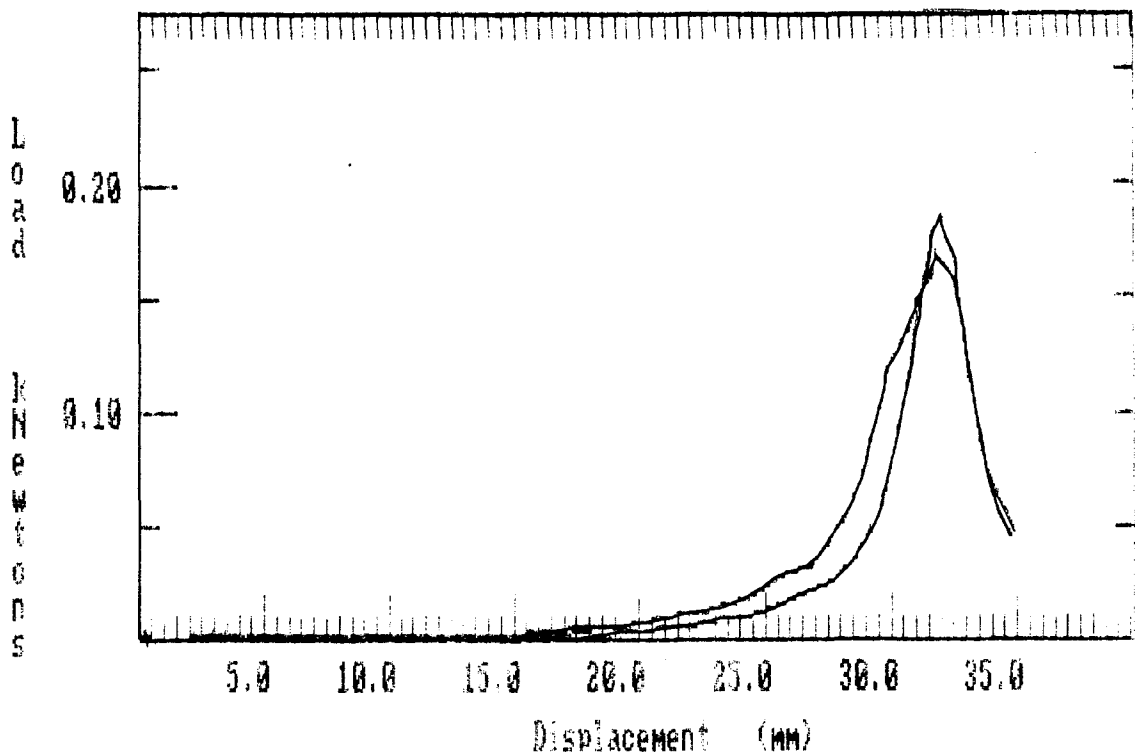
In figuur 5 zijn deze objectieve sensorische bepalingen gebruikt om de invloed van de leeftijd van de champignons op de textuur vast te stellen. Zeer goed zichtbaar is hoe de champignons steeds taaier en minder stevig worden. Dit betekent dat snelle verwerking zinvol is, hoewel aangenomen wordt, dat opslag kan leiden tot een grotere wateropname.

Ook de textuur van de champignon na verschillende bewerkingen, vergelijkbaar met die in tabel 3, is gemeten met de Instron. Geconcludeerd kan worden uit deze resultaten dat de toepassing van alleen alginaten geen verbetering van de textuur geeft.

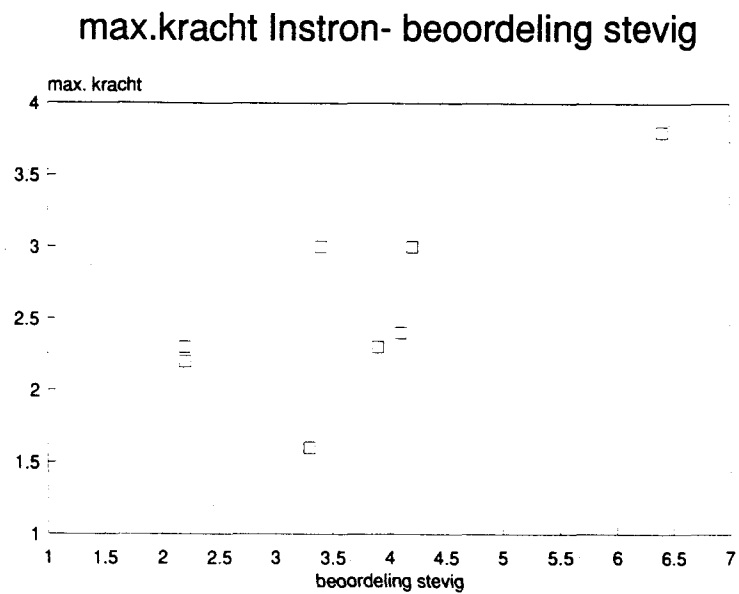
Figuur 1.



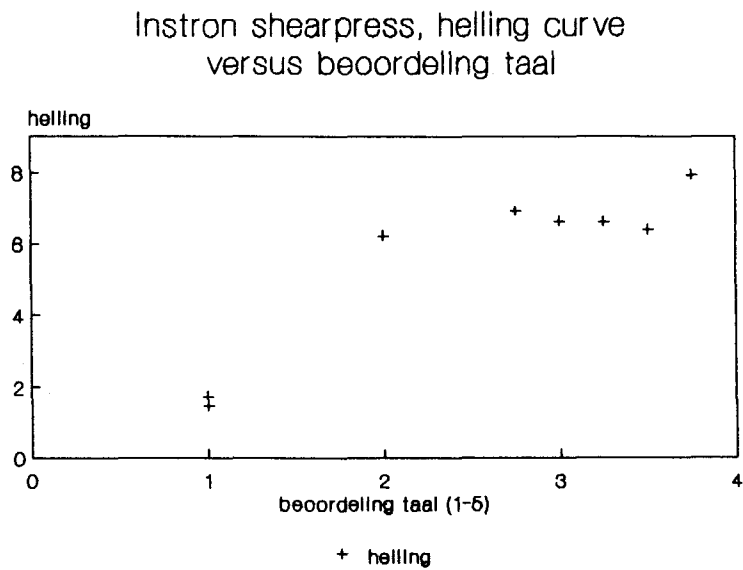
Figuur 2. Weergaven van de kracht uitgeoefend op twee geblancheerde champignonschijfjes als functie van de verplaatsing, gemeten met een Instron



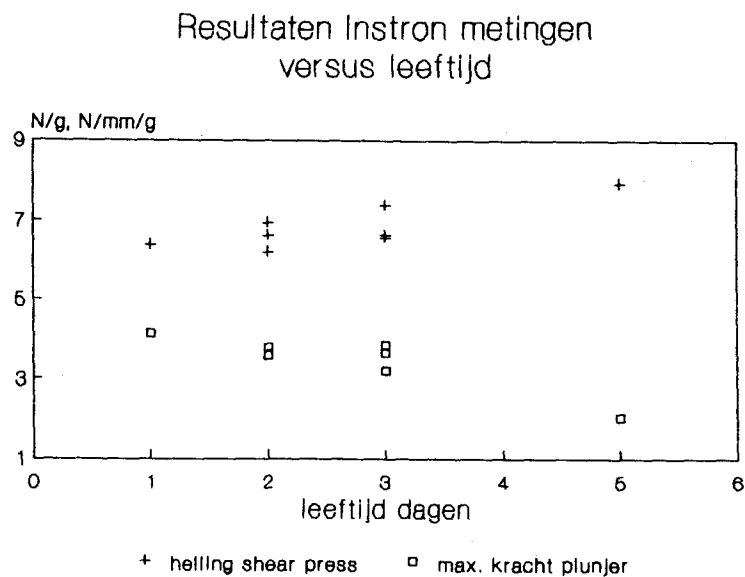
Figuur 3.



Figuur 4.



Figuur 5.



Tabel 4. Beoordeling taatheid en stevigheid van de champignon na diverse bewerkingen met behulp van Instron metingen

INSTRON METINGEN

Hellingshoek per gewichtseenheid

Evacuatievloeistof	Alginaat	water
Vers	0.3	0.3
geblancheerd	0.85	1.6
geblancheerd, diepgevroren	2.1	2.7
Voorfrituren, diepgevroren	4.6	3.2
Nafrituren	3.8	3.5

Maximale kracht per oppervlak

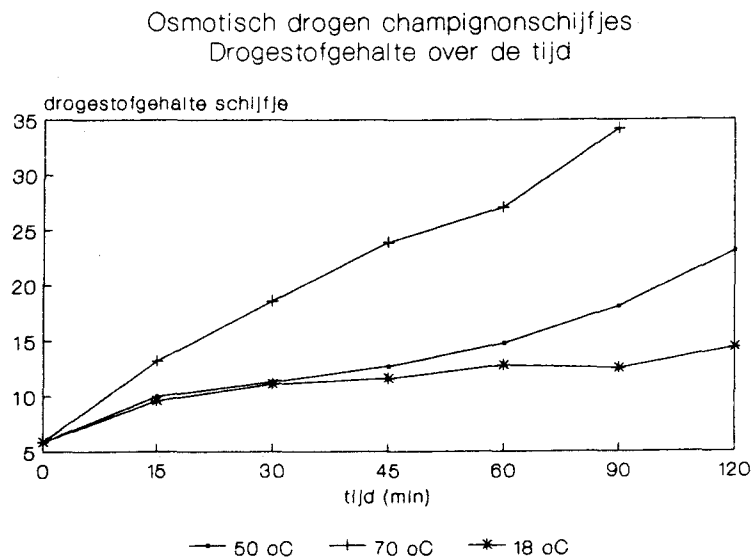
vers	0.15	0.15
geblancheerd	0.16-0.18	0.23
geblancheerd, diepgevroren	0.22	
voorgefrituurd, diepgevroren	0.30	0.26
nagefrituurd	0.27	0.30

Drogen en frituren

Voor de consument kunnen gedroogde en reeds gefrituurde producten een aantrekkelijk produkt zijn om als snack te eten of als snel te bereiden garnituur bij het diner. In dit kader zijn schijfjes op verschillende wijzen gedroogd, onder ander door bemeling en luchtdrogen en door osmotisch drogen. In figuur 6 is zichtbaar dat eerst de celstructuur beïnvloed moet worden met een temperatuurbehandeling van 70 °C om droging te bewerkstelligen. Bij hogere temperaturen vindt een sterkere uitloging plaats, waardoor het totaal rendement aan gedroogd materiaal lager wordt en enig aroma verloren gaat.

De osmotisch gedroogde producten vormen een goede basis voor gefrituurd producten met smakelijke textuur en aanzien. Met behulp van een vacuüm bakoven, waarbij het produkt nauwelijks in temperatuur stijgt, is het mogelijk om tevens een lichte en betere kleur te krijgen, terwijl het produkt krokant is. Het vetgehalte is na vacuüm frituren ongeveer 30%.

Figuur 6.



B. Publicaties

Geen.

C. Planning tweede helft 1992

In het vervolg van 1992 zal een verdieping plaatsvinden van het lopend onderzoek. Extra aandacht wordt besteedt aan drogen en objectivering van de sensorische bepalingen.

Dit betekent dat de navolgende werkzaamheden worden uitgevoerd:

- a) Drogen van champignonschijfjes in het bijzonder met behulp van vacuüm-microgolfverhittingstechnieken als voorbereiding voor frituren en als bewerking om een goed rehydrateerbaar produkt te krijgen.
- b) verder onderzoek naar de toepassing van evacuatievloeistoffen om een betere opbrengst en een betere textuur te krijgen.
- c) frituren onder vacuüm van schijfjes, waardoor een produkt ontstaat met een betere kleur en met minder vet. Dit deel van het onderzoek wordt gecombineerd met het drogen en toepassen van additieven aan de evacuatievloeistof.
- d) uitbreiding van het onderzoek om de textuur te meten aan de hand van Instronmetingen in relatie met veranderingen in de morfologie van de champignon.

Een beslissingsondersteunend systeem (DSS) voor strategische planning

Rob Broekmeulen

A. Voortgang eerste halfjaar 1992

Doel van dit project is het bestuderen van de bestaande en alternatieve afzetketens voor champignons in het kader van het thema integrale goederenstroombesturing. Integrale goederenstroombesturing is een logistiek vraagstuk en houdt in dat op de juiste momenten de juiste beslissingen over opslag, transport, bewerking en verwerking dienen te worden genomen. Hiervoor zijn modellen nodig voor het kwaliteitsverloop, het koelen en het verpakken van een bederfelijk produkt zoals champignons.

Om uitspraken te kunnen doen over de effecten van beslissingen op sectorniveau is het noodzakelijk dat inzicht wordt verkregen in de processen op tactisch en operationeel niveau. In dit kader zijn het afgelopen halfjaar drie modellen geschikt gemaakt voor inbouw in een Beslissing Ondersteunend Systeem (BOS of DSS).

- het effect van koelen en verpakken op de houdbaarheid van champignons (i.s.m. de KVM-groep en de groep "Verpakking en coatings").
- de gevolgen van het gekozen type en de schaalgrootte van koeltechnologie voor de afkoeltijd van champignons en de investerings- en exploitatiekosten van de installaties (i.s.m. de groep "Klimaattechnologie").
- beperking van de slinkverliezen bij de verwerking van champignons (i.s.m. met de groep "Procestechnologie en produktkarakterisering").

Deze modellen vormen slechts een deel van de benodigde onderdelen van het BOS. Na een grondige inventarisatie zullen tijdens de looptijd van het project de resterende modellen aan het BOS worden toegevoegd.

Voor het ontwikkelen van nieuwe markten voor champignons en het consolideren of uitbreiden op bestaande, is het noodzakelijk om de condities in de afzetketens te kennen en te (gaan) beheersen. Hierbij moet gelet worden op verlengen van de houdbaarheid aan de ene kant en op het verkorten van de doorlooptijd aan de andere kant. Een ketenbeschrijving waarin alle acties en condities van teler tot consument zijn vastgelegd, worden conditie-scenario's genoemd (CS). Het sectormodel wat met deze conditie-scenario's werkt is op dit moment opgebouwd uit drie lagen:

- 1 Aanmaak van potentieel aantrekkelijke conditie-scenario's.
- 2 Selectie van een set van relevante CS die voldoen aan de gewenste criteria (kwaliteit, kosten, exportactieradius, flexibiliteit, etc.) en die de sector volledig kunnen beschrijven (integraal).
- 3 Een doelprogrammeringsmodel dat bij de inrichting en besturing van

de sector met behulp van de geselecteerde CS rekening houdt met de aanwezige en/of gewenste capaciteiten (koelen, verpakken en handling).

Van deze drie lagen zijn volgens planning de tweede en derde laag geïmplementeerd in computermodellen.¹ Een doelprogrammeringsmodel dat geschikt is voor één handelsschakel tussen teler en markt is geïmplementeerd in het LP-pakket XPRESS. In afwijking van de planning heeft het huidige systeem nog niet de status van een volledig prototype omdat de beoogde gebruikers, de beleidsmakers en -medewerkers in de champignonsector, nog niet de mogelijkheid is geboden om met de beschikbare verzameling van modellen te experimenteren. De modellen bevinden zich nog in een laboratoriumomgeving en zullen m.b.v. de ontwikkeling van een adequate gebruikersinterface naar de praktijk moeten worden toegebracht.

Het gebruik van een DSS dat helpt bij het inzichtelijk maken van effecten op kwaliteit, kosten e.d. als gevolg van alternatieve ketenscenario's dient goed ondersteund te worden. Het is uit de literatuur bekend dat het op peil houden van "kennis" in een expertsysteem/DSS een kritische factor is. De nadruk zal in dit onderzoek liggen op de analyse van de champignonketenproblematiek en de generatie van oplossingen. Door gerichte inzet van OR/AI technieken zal dit probleem waar mogelijk ondervangen worden.

B. Publikaties

Geen.

C. Planning tweede halfjaar 1992

Het komende halfjaar zal voortvarend worden gebouwd aan een geschikte gebruikersinterface voor het selectiemodel en het aansluitende doelprogrammeringsmodel. Eind 1992 zal een 4GL-omgeving beschikbaar komen waarmee m.b.v. een grafische gebruikersinterface (afzet)ketens kunnen worden gevisualiseerd en opgebouwd.

Uit o.a. efficiëntie overwegingen (rekentijd, leercurve onderzoekers) zal de reeds verzamelde kennis over de processen in de sector worden verwerkt in een programma. De eindgebruiker zal in het systeem kleine wijzigingen kunnen aanbrengen die zich beperken tot het aanpassen van prioriteitsregels en het bijwerken van de database (de gegevens maar niet de structuur). Correcties en aanvullingen op de ingebrachte

¹ Voor de selectie van conditiescenario's is gekozen voor een aangepaste versie van het setcoveringprobleem. In dit project zijn we niet geïnteresseerd in de kleinste mogelijke set van CS maar in een set die qua omvang nog hanteerbaar voor het doelprogrammeringsmodel en tevens robuuste en flexibele sectorinrichtingen oplevert.

kennis(modellen) dienen via het normale ontwikkelingstraject te worden ingebracht. Het prototype zal hier zijn diensten bewijzen.

Koel- en bewaarsystemen voor champignons

J.W. Rudolphij

A. Voortgang eerste halfjaar 1992

Doel van het project

Onderzoek naar de invloed van het toegepaste koelsysteem (factoren: luchtsnelheid, luchtvochtigheid en de sturing van het systeem nl. continu of aan/uit in enkele variaties) op de koelsnelheid, het vochtverlies en de bruinverkleuring van champignons.

Werkplan 1992

Met betrekking tot de fasering van het project zijn de werkzaamheden in het 2e jaar hoofdzakelijk gericht op het verzamelen van experimentele gegevens als grondslag voor het vaststellen van kentallen toe te passen in het koelcelmodel KOBAC en voor het vaststellen van de invloed van koelprocessen op de kwaliteit van het produkt. Omdat verdamping van water uit een produkt een belangrijk deel van het koeleffect uitmaakt, staan koeltijd en vochtverlies in relatie tot elkaar. Met de in 1992 uit te voeren proefserie wordt beoogd een vergelijkend afkoelproces en opslagproces te realiseren tussen een droog en een vochtig koelregime. (zie voortgangs-rapportage 1991).

Werkzaamheden 1e helft 1992

Van de proefserie zijn inmiddels 2 afkoelproeven en de inlooppoef gerealiseerd. In dit geval moest met de leverancier van het produkt een afwijkende werkwijze worden afgesproken om het verschil in verpakking op te heffen, waarin proefprodukt (1e kwaliteit champignons) en vulprodukt (industriekwaliteit champignons) normaal worden aangeleverd. Deze verpakkingen zijn niet gemengd te gebruiken op één pallet en champignons kunnen, wanneer de kwaliteit een beoordelingsfactor is, niet worden overgestort van de ene verpakking naar de andere. Verder was het nodig extra aandacht te besteden aan een systeem voor datareductie. De ingezette datalogger kan slechts continu temperatuur- en vochtgegevens wegschrijven naar een harde schijf en deze hoeveelheid data was niet zonder meer voor verdere verwerking te vervoeren tussen de beide locaties van het ATO.

Een voorbeeld van een meetresultaat is gegeven in figuur 1. De natte koelcel blijkt ten opzichte van de verdamperkoelcel duidelijk beperkt in zijn mogelijkheden om een lagere opslagtemperatuur dan ca. 6 °C te realiseren. In dat systeem wordt de celtemperatuur via de watertemperatuur geregeld. Die op zijn beurt is beperkt tot een minimum temperatuur van

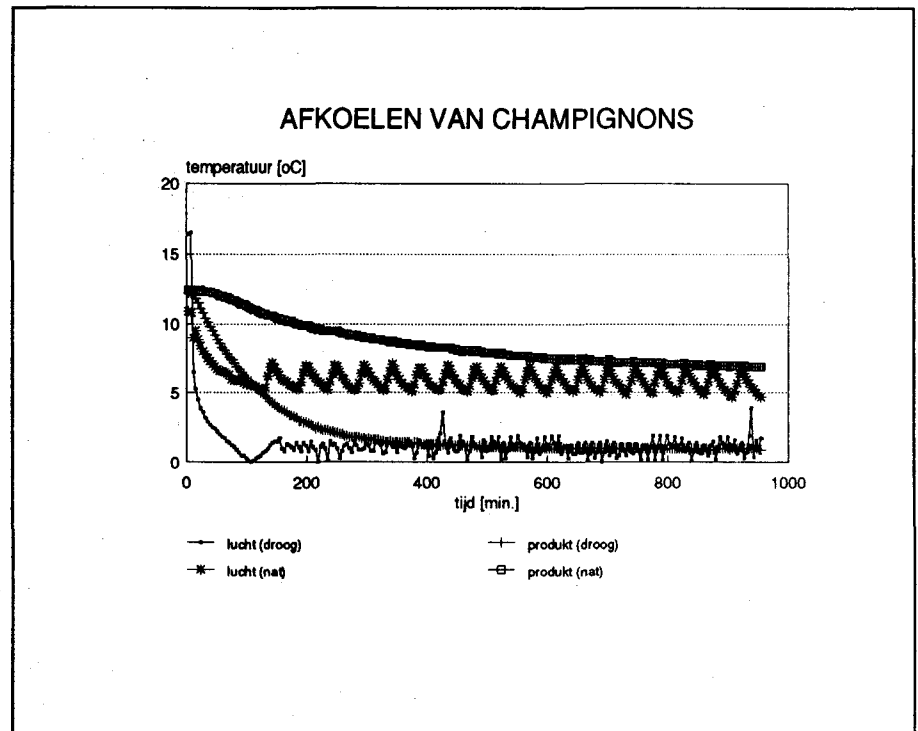
0 °C. De dimensionering van het warmte- en vochtuitwisselend oppervlak van de aanwezige koeler schiet binnen die begrenzing tekort om de warmtebelasting van een volle pallet champignons te verwerken. Als gevolg daarvan worden de proeven voortgezet met gereduceerde pallets. Het verschil in produkttemperatuur in de opslagfase betekent ook, dat de vochtverliezen nog niet goed zijn te interpreteren. Bij de verdamperkoeling is het vochtverlies ca. 1.4 % tijdens afkoeling en totaal na enkele dagen opslag tussen de 2% en 4 % ; bij de natte koeling ca. 0.9 % na afkoeling en tussen de 2% en 3 % na enkele dagen opslag. Met betrekking tot de bruinverkleuring zijn de waargenomen verschillen erg gering. Een lichte tendens ten voordele van de droge koeling is aanwezig. Echter tot nu zijn in de proeven nog elementen aanwezig, die invloed kunnen uitoefenen op het resultaat buiten de specifieke keuze van het koelsysteem. Met name betreft dit de opslagtemperatuur en het luchtdebiet tijdens de opslag. Beide zijn momenteel waarschijnlijk gunstiger voor het beperken van bruinverkleuring in de droge koelcel. In de natte koelcel wordt nog een voorziening getroffen om het minimum circulatievoud verder te kunnen reduceren.

B. Publikaties

Lezing "Basis van vochtbeheersing in koel- en bewaarruimten voor groenten": Centraal Bureau Tuinbouwveilingen, bijeenkomst koelhuischefs, 13 mei 1992.

C. Planning 2e halfjaar 1992

Afwerken lopende proefserie en rapportering.



Computer Beeld Analyse

B. van Zwol

A. Voortgang eerste halfjaar 1992

Doelstelling

Het meten van de kwaliteitsbepalende aspecten van champignons op een objectieve manier met behulp van Computer Beeld Analyse. Uiteindelijk zullen de met CBA ontwikkelde meetroutines worden gebruikt voor het bouwen van een prototype van een kwaliteitscontrole apparaat waarmee deze metingen ook onder praktische omstandigheden kunnen worden uitgevoerd.

Geplande activiteiten in de verslagperiode

- Metingen aan champignons op trays t.b.v. kleur en verkleuringen.
- Aanpassing van belichting, opname-instelling en calibratiemethode
- Vergelijking opnames met zwart-wit camera en kleurencamera
- Metingen voor positie onafhankelijke beoordeling van champignons

Verslag werkzaamheden

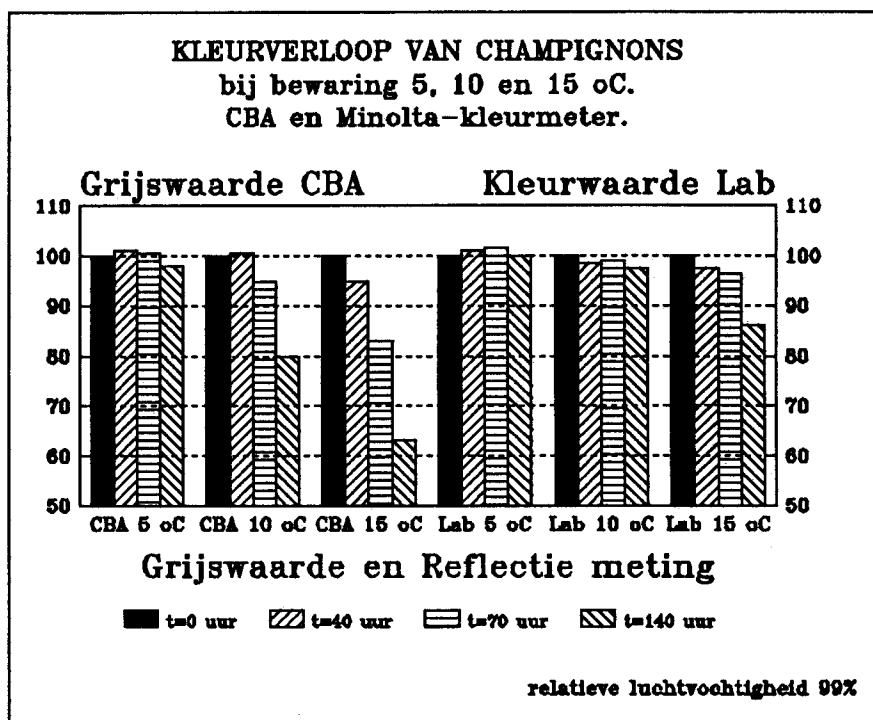
In het afgelopen half jaar zijn metingen gedaan aan champignons die werden bewaart bij 0, 5, 10, en 15 °C. Dagelijks werden de champignons 's morgens en 's middags gemeten gedurende een bewaarperiode van 7 dagen. Van elke tray werden vier opnames gemaakt, telkens een kwartslag gedraaid. Voor elke opname werd de belichtingskast optimaal ingesteld overeenkomstig eerdere opnames met behulp van een calibratieprogramma waarbij gebruik gemaakt werd van een wit en een grijs calibratieplaatje.

Ondanks de calibratie vooraf zitten er duidelijke verschillen tussen de 4 telkens een kwartslag gedraaide opnamen. In verband hiermee is een tweede proef uitgevoerd waarbij in elke opname 2 calibratie schijfjes en 22 champignons zijn opgenomen. Met de calibratie schijfjes kunnen eventuele correcties worden gedaan. In deze proef zijn 4 trays bewaard bij 10 °C en werd er weer 2 x daags gemeten.

Door bij de analyse de nummering van de champignons aan te houden kan per champignon het kleurverloop worden bepaald. Uit deze proeven blijkt dat de grijswaardeverschillen tussen de champignons onderling dermate groot zijn dat het niet mogelijk is de verlopen bewaartijd uit het kleurniveau te bepalen zolang de bewaartijd korter is dan 3 dagen.

Duidelijk blijkt de witheid af te nemen, echter eerst na meer dan 3 dagen is er een onderscheid tussen de verschillende bewaartemperaturen. Ook het percentage verkleuringen neemt toe, bij 10 en 15 °C sterker dan bij 5 °C terwijl bij 0 °C er nauwelijks sprake is van toename.

Bij de proef met de opnamen met 2 calibratieschijfjes zijn ook opnamen



gemaakt met de kleurencamera. Het gebruik van een kleurencamera is niet strikt noodzakelijk om de afname van de witheid aan te tonen, echter bij bruin-kleuring van de champignons is dit met een kleurencamera beter aan te tonen. Ook worden in het blauwe beeld de verkleuringen duidelijker afgebeeld.

Voor het uitvoeren van metingen aan champignons zijn positie onafhankelijke meetroutines ontwikkeld. De meetroutines zijn getest aan 100 opnamen van willekeurig neergelegde champignons op een tray en vergeleken met de handmatig gemeten afmetingen. Het verband tussen de met de hand gemeten lengtes en dikten en de metingen met behulp van CBA is lineair, correlatiecoëfficiënt $r=0.98$.

B. Publikaties

Geen.

C. Planning tweede halfjaar 1992

- Beoordeling van opname-aspecten voor kleur en verkleuring, lengte- en diktemetingen en mate van hoedopening op een tray.
- Metingen van steellengte en ho addediameter, bij ligging van de champignon op hoed, steel of zijkant.
- Ontwikkeling van meetroutines voor de keuze van champignons voor het bepalen van kleur en verkleuringen of voor het meten van steellengte, ho addediameter en mate van hoedopening.

- Metingen aan champignon"mengels" op een tray.
- Herhalingsmetingen en beoordeling van de meetresultaten.

Herhalingsmetingen zullen ook gebruikt worden om de relatie tussen de kwaliteit van champignons (kleur) en het aantal bewaardagen beter te definiëren.